

Desempenho de *Spodoptera frugiperda*
(Smith, 1797) em Milho Expressando
as Proteínas Cry1A.105/Cry2Ab2
no Ambiente de Terras Baixas



***Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Clima Temperado
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento***

**BOLETIM DE PESQUISA
E DESENVOLVIMENTO
287**

**Desempenho de *Spodoptera frugiperda* (Smith,
1797) em Milho Expressando as Proteínas
Cry1A.105/Cry2Ab2 no Ambiente de Terras Baixas**

*Fabício Oliveira Fernandes
Jéssica Ávila Abreu
José Francisco da Silva Martins
Ana Paula Schneid Afonso da Rosa*

***Embrapa Clima Temperado
Pelotas, RS
2018***

Embrapa Clima Temperado 28
BR 392 km 78 - Caixa Postal 403
CEP 96010-971, Pelotas, RS
Fone: (53) 3275-8100
www.embrapa.br/clima-temperado
www.embrapa.br/fale-conosco

Comitê Local de Publicações

Presidente
Ana Cristina Richter Krolow

Vice-Presidente
Enio Egon Sosinski

Secretário-Executivo
Bárbara Chevallier Cosenza

Membros
*Ana Luiza B. Viegas, Fernando Jackson,
Marilaine Schaun Pelufê, Sonia Desimon*

Revisão de texto
Bárbara Cosenza

Normalização bibliográfica
Marilaine Pelufê

Editoração eletrônica
Nathália Fick (estagiária)

Foto capa
Ana Paula Afonso da Rosa

1ª edição
Obra digitalizada (2018)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte,
constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Clima Temperado

-
- D451 Desempenho de *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797)
em milho expressando as proteínas Cry1A.105/
Cry2Ab2 no ambiente de terras baixas /
Fabrício Oliveira Fernandes... [et al.]. – Pelotas:
Embrapa Clima Temperado, 2018.
26 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento /
Embrapa Clima Temperado, ISSN 1678-2518 ;287

1. Milho. 2. Lagarta-do-cartucho. 3. Praga de planta.
I. Fernandes, Fabrício Oliveira. II. Série.

CDD 633.15

Sumário

Resumo5

Abstract7

Introdução.....8

Material e Métodos 11

Resultados e Discussão13

Conclusões.....22

Referências22

Desempenho de *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) em Milho Expressando as Proteínas Cry1A.105/Cry2Ab2 no Ambiente de Terras Baixas

Fabrício Oliveira Fernandes¹

Jéssica Ávila Abreu²

José Francisco da Silva Martins³

Ana Paula Schneid Afonso da Rosa⁴

Resumo – *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), a lagarta-do-cartucho do milho, é um dos insetos mais prejudiciais à cultura, atacando as plantas durante todo o ciclo de desenvolvimento. O uso de cultivares de milho resistentes a *S. frugiperda*, como as transgênicas que expressam as proteínas Cry1A.105/Cry2Ab2, é um dos métodos mais desejáveis e ecologicamente adequados para o controle do inseto, por manter suas populações abaixo do nível de dano econômico, reduzindo o uso de inseticidas químicos. Cultivos intensivos dessas cultivares, porém, podem contribuir para a evolução da resistência de *S. frugiperda* às proteínas. Por isso, estudou-se a biologia de *S. frugiperda* em laboratório, com o objetivo de comparar o desempenho do inseto em uma cultivar de milho convencional (AG 9045) em relação a uma cultivar transgênica (AG 9045 PRO2). As variáveis analisadas foram: número de instares; duração e viabilidade das fases de ovo, lagarta, pré-pupa, pupa e adulta, fecundidade; peso de pupas; razão sexual. Na avaliação da fase adulta, considerou-se a longevidade, período de pré-oviposição e fecundidade, sendo elaborada a tabela de vida e fertilidade. Constatou-

¹ Engenheiro-agrônomo, doutorando em Agronomia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal, SP.

² Engenheira-agrônoma, mestranda em Entomologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS.

³ Engenheiro-agrônomo, D. Sc. Em Entomologia, pesquisador da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS.

⁴ Engenheira-agrônoma, D. Sc. em Agronomia, pesquisadora da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS.

se que, apesar do efeito subletal das proteínas Cry1A.105/Cry2Ab2 sobre *S. frugiperda*, afetando, principalmente, a viabilidade das fases de ovo, larva, pupa e adulta, e reduzindo a progênie, o inseto completou o ciclo biológico na cultivar que expressa tais proteínas.

Termos para indexação: resistência, lagarta-do-cartucho, proteínas *Bt*.

Performance of *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) in corn expressing the Cry1A.105 / Cry2Ab2 proteins in the lowland environment

Abstract – *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), the maize fall armyworm, is one of the most important insects in the crop, attacking plants throughout the development cycle. The use of *S. frugiperda* resistant maize cultivars, such as transgenic plants expressing Cry1A.105 / Cry2Ab2 proteins, is one of the most desirable and ecologically appropriate methods for controlling this insect, keeping its populations below the level of economic damage, and reducing the use of chemical insecticides. Intensive cultures of these cultivars, however, may contribute to the evolution of *S. frugiperda* resistance to proteins. In order to compare the performance of this insect in a conventional corn cultivar (AG 9045) and in a transgenic one (AG 9045 PRO2), the biology of *S. frugiperda* was studied. The following variables were evaluated: number of instars; duration and viability of the stages of egg, larvae, pre-pupae, pupa and adult, fecundity; pupae weight; sexual reason. In the evaluation of the adult phase, longevity, pre-oviposition period and fecundity were considered, and life and fertility table was elaborated. It was observed that, despite the sublethal effect of Cry1A. 105/Cry2Ab2 proteins on *S. frugiperda*, mainly affecting the viability of the egg, larva, pupa and adult phases, reducing the progeny, the insect completed the biological cycle in the cultivar expressing these proteins.

Index terms: resistance, fall armyworm, *Bt* proteins.

Introdução

A espécie *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) é uma das principais pragas da cultura do milho. É denominada lagarta-do-cartucho, por atacar preferencialmente tal parte da planta de milho. Pode ocorrer em todas as fases de desenvolvimento das plantas, da emergência à emissão do pendão (pendoamento). Quando ataca na fase inicial de desenvolvimento, pode perfurar a base das plantas, atingindo o ponto de crescimento e provocando a morte (Cruz, 2016).

As perdas de produção de grãos em regiões tropicais, causadas por *S. frugiperda*, são da ordem de 35%, em casos de ataques severos, variando de acordo com a fase de desenvolvimento das plantas, cultivar utilizada, local de plantio e as práticas agronômicas adotadas (Cruz, 1995), dentre outros fatores.

Com o avanço da biotecnologia, em 1981, novas perspectivas foram vislumbradas, incluindo a possibilidade de se introduzir genes de *Bacillus thuringiensis* (*Bt*), codificadores das toxinas nos genomas dos vegetais (Maagd et al., 1999; Schnepf; Whiteley, 1981;). Nos Estados Unidos da América, a primeira cultivar de milho geneticamente modificada, expressando a proteína Cry1Ab de *Bt*, foi introduzida comercialmente em 1996, a qual vem sendo utilizada com sucesso no país, uma vez que as proteínas são produzidas continuamente nos tecidos da planta e protegidas contra a degradação por fatores ambientais (Siegfried, 2007; Soberón et al., 2009).

No Brasil, as primeiras pesquisas com milho transgênico foram realizadas em 1997 pela Syngenta, com o milho *Bt* 11 (Syngenta, 2010). Somente em 2007 ocorreu a liberação comercial de três eventos de milho: LibertyLink®, com tolerância ao glufosinato de amônia; YieldGard® (Mon 810 - Cry1Ab); e *Bt* 11® (Syngenta - Cry1Ab PAT), sendo esses dois últimos com gene *Bt* para resistência a insetos da ordem Lepidoptera.

Atualmente, no Brasil, estão liberados para a comercialização eventos que expressam diferentes toxinas em milho resistentes a insetos, além da combinação desses eventos com outros de tolerância a herbicidas. No registro das empresas, as pragas-alvo incluem seis espécies: *S. frugiperda*, *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (Lepidoptera: Noctuidae), *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae), *Elasmopalpus lignosel-*

lus (Zeller, 1848) (Lepidoptera: Pyralidae), *Agrotis ipsilon* (Hufnagel, 1766) (Lepidoptera: Noctuidae) e *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824) (Coleoptera: Chrysomelidae) (CTNBio, 2017).

O uso de cultivares resistentes a insetos-pragas é um dos métodos tecnicamente, ecologicamente e economicamente mais adequados para o controle, por manter as populações abaixo do nível de dano econômico, pois basicamente não causa distúrbios ao meio ambiente, e não acarreta ônus adicionais. Ademais, a facilidade de utilização, a não interferência nas demais práticas culturais e larga compatibilidade com outros métodos de controle viabilizam a incorporação dessa técnica em programas de manejo integrado de pragas (Vendramim; Nishikawa, 2001).

Avaliação da resposta de *S. frugiperda* a milho geneticamente modificado (expressando a toxina Cry1Ab) indicou que a sobrevivência de lagartas foi menor quando alimentadas com as cultivares DKB 330 YG, AG 9010 YG, DKB 350 YG, DKB 390 YG, P 30K75 YG, P 30F80 YG do que com híbridos de milho isogênicos não *Bt*, comprovando a eficiência da tecnologia (Mendes; Waquil, 2009). Porém, a grande disponibilidade de milho geneticamente modificado induziu um cultivo intensivo, o que contribuiu para a evolução da resistência do inseto a essa tecnologia, principalmente às cultivares *Bt* que expressam as proteínas Cry1F e Cry1Ab (Farias et al., 2016; Omoto et al., 2016).

Conforme ocorre em relação a qualquer tática de controle de insetos-praga, o potencial para uso em longo prazo de culturas transgênicas, visando o controle de *S. frugiperda*, pode ser limitado, caso não haja um adequado manejo da resistência. Assim, algumas premissas precisam ser atendidas, tais como implantar áreas de refúgio, monitorar as lavouras (para evitar ou retardar a seleção de lagartas resistentes às toxinas *Bt*) e avaliar a eficiência do milho na redução da população de lagartas. Além do monitoramento populacional de lagartas e dos danos foliares ao milho, é importante conhecer a dinâmica da população de adultos durante as safras, de modo a acompanhar a distribuição e dispersão do inseto, prevendo as infestações nas áreas de produção de milho (Waquil, 2003; Marrucci, 2010).

Em 2008, foram liberados para comercialização híbridos expressando a proteína Cry 1F (Herculex), resistentes a *S. frugiperda*. Porém, devido às características da espécie, como a sobreposição de gerações (Afonso-Rosa;

Barcelos, 2012), há possibilidade de que o inseto se torne resistente à proteína Cry 1F, conforme ocorreu em Porto Rico, onde, quatro anos pós-liberação do milho *Bt*, foi constatada a evolução de resistência à referida proteína (Storer et al., 2010).

Outra possibilidade incorporada ao manejo da resistência consiste no uso de pirâmides de genes, ou seja, a expressão de mais de uma toxina numa mesma cultivar. A base dessa estratégia é, algumas vezes, denominada de “morte redundante”; isso porque os insetos adaptados a uma primeira proteína morrem devido à segunda proteína, sendo que um inseto suscetível “morre duas vezes” (Gould, 1998).

No Brasil, a primeira liberação de uma planta de milho com mais de uma proteína, visando ao controle de *S. frugiperda*, ocorreu em 2009. Trata-se do evento MON89034, que expressa as proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2. Desde então, foi observada uma tendência da indústria de sementes em produzir cultivares que expressassem mais de uma proteína *Bt*, sendo essa uma das principais estratégias para o manejo da resistência do inseto no Brasil (Leite et al., 2011; Tabashnik et al., 2013).

Cabe ressaltar que, enquanto estratégia para o manejo de resistência, as culturas de *Bt* piramidadas deverão ser mais resistentes aos insetos, e cada toxina *Bt* deve estar recessiva e associada a uma condição física reduzida de indivíduos resistentes em plantas *Bt* e não *Bt*. No entanto, há pouco conhecimento sobre essa resposta evolutiva de espécies-alvo para a pressão de seleção imposta por duas ou mais toxinas com mecanismos de ação independentes (Gould et al., 2006).

A utilização do milho YieldGard VT PRO® (Cry1A.105/Cry2Ab2) no controle de *S. frugiperda* é muito importante às ações de manejo da resistência, pois a expressão dessas proteínas é distinta das expressas por Cry1Ab e Cry1F, em relação às quais já há relatos sobre insetos que se tornaram resistentes (Bernardi et al., 2011).

É importante destacar ainda que, nos anos de 2016/2017, foram disponibilizadas 477 cultivares de milho, sendo 214 geneticamente modificadas (Pereira Filho; Borghi, 2016). Atualmente, no Brasil há disponibilidade de 14 eventos de milho transgênico: YieldGard (Cry1Ab), Agrisure TL (Cry1Ab), Herculex (Cry1F), Viptera (Vip3Aa20), YieldGard VT PRO (Cry1A.105+Cry2Ab2),

VT PRO 2 (Cry1A.105+Cry2Ab2), VT PRO 3 (Cry3Bb1), PowerCore (Cry1A.105+Cry2Ab2), HX YG RR2 (Cry1Ab + Cry1F), Optimum Intrasect (Cry1Ab + Cry1F), VT PRO Max (Cry1A.105+Cry2Ab2+Cry3Bb1), Viptera 4 (Cry1Ab+VIP3Aa20+mcr3A), Herculex Xtra (Cry1F+Cry34Ab1+Cry35Ab1) e YieldGard + Herculex + Viptera (Cry1F+Cry1Ab +Vip3Aa20) (Emygdio, 2017).

Embora a utilização de híbridos expressando as proteínas Cry1A.105+Cry2Ab2 seja uma das alternativas para o controle da lagarta-do-cartucho, estudos conduzidos por Bernardi et al. (2016) evidenciaram que a mortalidade de lagartas neonatas alimentadas com folhas de milho YieldGard VT PRO é completa. Em estilo-estigmas e grãos, há baixa mortalidade, sendo possível completar o ciclo biológico do inseto, no entanto, os parâmetros da tabela de vida de fertilidade são afetados negativamente. A sobrevivência desses insetos em estilo-estigmas e grãos pode comprometer a eficácia da tecnologia, pois a sobrevivência de indivíduos heterozigotos aumenta a frequência desses insetos a cada geração, dificultando o controle.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o desempenho de uma população de *S. frugiperda* coletada em milho no ambiente de terras baixas, que apresenta alto índice de incidência de lagartas e elevada pressão de seleção, em cultivar de milho expressando as proteínas Cry1A.105/Cry2Ab2.

Material e Métodos

Um bioensaio foi realizado no Laboratório de Entomologia da Embrapa Clima Temperado, em Capão do Leão - RS, como base ao estudo da biologia de *S. frugiperda* nas cultivares de milho AG 9045 (convencional) e AG 9045 PRO2 (que expressa as proteínas Cry1A.105/Cry2Ab2). Inicialmente, para obter material vegetal das cultivares, sementes foram distribuídas em baldes plásticos (três sementes/balde) com capacidade de 20 litros, contendo substrato natural (West Garden™). A irrigação e tratos culturais foram efetuados em conformidade com as indicações técnicas para a cultura do milho (Reunião, 2013).

Utilizaram-se 135 lagartas neonatas para a alimentação em cada cultivar, individualizadas em tubos de vidro (2,5 cm de diâmetro x 8 cm de altura), es-

terilizados, preenchidos até a metade (1/2 do comprimento) com folhas. Em cada tubo foi inserido um pedaço de papel filtro (1 cm x 2 cm) umedecido em água destilada (Parra, 2001). Após tamponamento com algodão hidrófugo, os tubos foram mantidos em câmara climatizada ($25 \pm 1^\circ\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14h). O alimento foi substituído diariamente, até que as lagartas atingissem a fase de pré-pupa.

Na fase pupal, foi feita a sexagem (Butt; Cantu, 1962), seguida de pesagem em balança de precisão (Shimadzu - AUW220D: sensibilidade = 0,00001 g), antes de 24 horas da transformação. As pupas foram mantidas individualmente em tubos de criação, com papel filtro umedecido em água destilada, até a emergência dos adultos.

Adultos (fêmeas e machos) de *S. frugiperda* oriundos da criação nos tubos de vidro, com folhas de cada cultivar (convencional e transgênica), que não apresentavam diferença maior do que 48 horas, quanto à emergência, foram pareados (formação de casais) e transferidos a gaiolas de PVC com 10 cm de diâmetro e 25 cm de altura. O interior das gaiolas foi revestido com papel sulfite reciclado (para servir de substrato à oviposição), sendo a parte superior coberta com tecido telado tipo "voile". Os adultos foram nutridos com solução de mel a 10% fornecida por capilaridade, via roletes de algodão hidrófilo, embebidos em recipientes de vidro, trocados após dois dias de uso. Os ovos, retirados diariamente, foram contados utilizando-se microscópio estereoscópico (Leica - S8 APO) com aumento 25X.

O número de instares de *S. frugiperda* foi determinado pelo método gráfico, sendo as hipóteses formuladas e testadas no modelo linearizado da regra de Dyar (Dyar, 1890), utilizando-se o software Modelos Bioestatísticos para a Entomologia (Mobae) (Haddad et al., 1995). Registraram-se, ainda, as seguintes variáveis biológicas do inseto: duração (dias) e viabilidade (%) das fases de ovo, lagarta, pré-pupa, pupa e adulto; oviposição; peso de pupas com 24 horas; razão sexual. Na fase adulta foi registrada a longevidade, período de pré-oviposição e fecundidade.

Elaborou-se a tabela de vida e de fertilidade de *S. frugiperda*, segundo Silveira Neto et al. (1976), conforme as seguintes variáveis: período total de desenvolvimento (ovo - adulto); viabilidade total; razão sexual; período de pré-oviposição; número de ovos por dia; mortalidade diária de fêmeas e machos. Os parâmetros para a tabela de vida consistiram no intervalo de idade (x) no

qual foi tomada a amostra, sendo seu valor o ponto médio do intervalo, e na fertilidade específica (m_x) e (l_x) taxa de sobrevivência durante o estágio x .

Os seguintes parâmetros foram avaliados: taxa líquida de reprodução (R_0); intervalo de tempo entre cada geração (T); capacidade inata de aumentar em número (r_m); número de indivíduos adicionados à população, por fêmea, por dia, que posteriormente deram origem a fêmeas (λ).

A análise dos dados obtidos pelo experimento foi baseada no delineamento de tratamentos inteiramente casualizado, sendo cada inseto considerado uma repetição. Devido à heterogeneidade de variâncias (Teste de Hartley), os dados de peso de larvas e pupas, e de duração de ambas fases, foram transformados em $\sqrt{x+0,5}$. Os dados inerentes a todas as variáveis foram submetidos à análise de variância (teste F), sendo as médias dos tratamentos comparadas (teste t: 5% de probabilidade) pelo Sisvar, programa estatístico (Silva; Azevedo, 2016).

Resultados e Discussão

No bioensaio, lagartas de *S. frugiperda* alimentadas com folhas das cultivares convencional (AG 9045) e transgênica de milho (AG 9045 PRO2) atingiram cinco e seis instares, respectivamente (Figuras 1 e 2), porém sem diferir significativamente quanto à duração da fase larval (Tabela 1); portanto, não correspondendo à expectativa de que o consumo em uma cultivar *Bt* aumentasse o período de crescimento do inseto. Nesse contexto, estudo sobre o tempo letal da lagarta-do-cartucho em milho *Bt*, baseado na alimentação em folhas de cultivares que expressassem as proteínas Cry1A.105/Cry2Ab2, Cry1F e Cry1Ab/Cry1F, indicou elevados índices de adaptação, podendo populações do inseto possuir resistência, possivelmente cruzada, às proteínas (Waquil et al., 2013). Ainda foi observada elevada sobrevivência de lagartas de terceiro instar de *S. frugiperda* ($\pm 90\%$) alimentadas com híbrido que expressa a proteína Cry1Ab, indicando ineficiência para controle do inseto (Hardke et al., 2011). Ademais, é importante relatar que eventos como o MON 810, que expressam a proteína Cry1Ab, apesar de contribuírem para o manejo da resistência de *S. frugiperda*, sendo de baixa dose, não impedem a sobrevivência de indivíduos heterozigotos (Roush, 1994; Omoto et al., 2016).

Apesar dos estudos acima mencionados embasarem justificativas para, no bioensaio, o consumo de folhas da cultivar transgênica de milho (AG 9045 PRO2) por lagartas de *S. frugiperda* não ter aumentado o período de crescimento (Tabela 1), outros estudos inerentes ao tema, ao contrário, evidenciaram efeitos deletérios ao inseto e espécie afim. Citam-se: maior período larval, menor biomassa e, por conseguinte, pior desenvolvimento, comparativamente a insetos alimentados com milho convencional (Mendes et al., 2011); maior período de desenvolvimento de *Spodoptera littoralis* (Boisduval, 1833), com evidência de que a exposição contínua a toxinas exerce efeito crônico na espécie (Dutton et al., 2005).

Assim, ainda que no bioensaio não tenha ocorrido diferença significativa quanto à duração do período larval de *S. frugiperda*, baseada na alimentação nas cultivares AG 9045 e AG 9045 PRO2 (Tabela 1), o maior número de instares atingido na cultivar transgênica indicaria insetos menos competitivos, basicamente, mais suscetíveis a outros fatores deletérios, bióticos e abióticos dos agroecossistemas (Silveira et al., 1997).

As cultivares convencional (AG 9045) e transgênica de milho (AG 9045 PRO2) também não diferiram significativamente em relação à duração da fase de ovo de *S. frugiperda* (Tabela 1), corroborando resultado de estudo sobre a biologia do inseto nas linhagens de milho M89374 e M89601 (Rosa et al., 2012). Do mesmo modo, não houve diferença significativa entre as cultivares quanto ao período pré-pupal (Tabela 1), sendo os resultados, nesse caso, similares aos de avaliação de variáveis biológicas de *S. frugiperda* oriunda de distintas localidades e hospedeiros (Giollo et al., 2002).

Ocorreu diferença significativa entre as cultivares quanto à duração da fase pupal de *S. frugiperda*, sendo cerca de 9% maior na convencional (Tabela 1). Esse resultado contraria a expectativa de que o consumo de folhas da cultivar transgênica aumentasse o período pupal. Porém, certas características das cultivares, mesmo não transgênicas, podem interferir na duração da fase pupal. Destaca-se a condição fisiológica das plantas, a qual nem sempre é adequada à nutrição dos insetos e pode implicar alongamento de fases de desenvolvimento, de modo a completar o ciclo biológico (Parra, 2009).

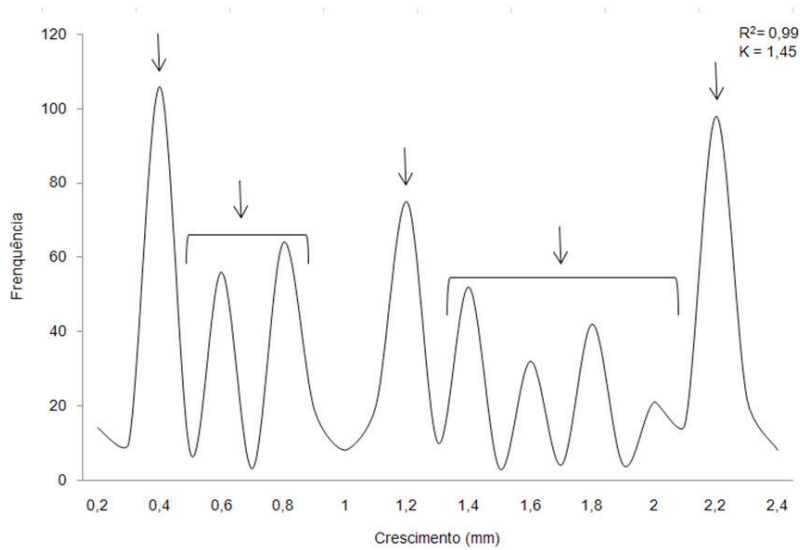


Figura 1. Distribuição de frequência do tamanho da cápsula cefálica de *Spodoptera frugiperda* (mm) alimentada com folhas da cultivar de milho convencional AG 9045; setas indicam limites dos instares; razão de crescimento (K) e coeficiente de determinação (R^2).

Tabela 1. Duração (dias) de fases do ciclo biológico de *Spodoptera frugiperda* alimentada com folhas da cultivar convencional (AG 9045) e transgênica de milho (AG 9045 PRO2: isolinha Bt) em laboratório¹.

Fases do ciclo biológico	Cultivares		
	AG 9045	AG 9045 PRO2	CV ²
Ovo	2,3 ± 0,2 A [8] ³	2,5 ± 0,5 A [4]	70,2
Lagarta	24,2 ± 0,8 A [135]	22,3 ± 1,1 A [135]	47,1
Pré-pupa	2,2 ± 0,2 A [88]	2,6 ± 0,2 A [66]	65,0
Pupa	15,4 ± 0,4 A [64]	14,1 ± 0,5 B [44]	20,3
Adulto	9,0 ± 0,5 A [64]	5,8 ± 0,5 B [36]	46,3

Continua...

Continuação Tabela 1.

Fases do ciclo biológico	Cultivares		
	AG 9045	AG 9045 PRO2	CV ²
Oviposição ⁴	5,6 ± 0,6 A [9]	2,5 ± 0,5 B [4]	46,8
Total	53,1	47,3	

¹Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem significativamente pelo teste t em nível de 5% de probabilidade;

²Coeficiente de variação (%);

³Número de observações [n];

⁴Não compôs o cálculo da duração do ciclo biológico completo (total) do inseto.

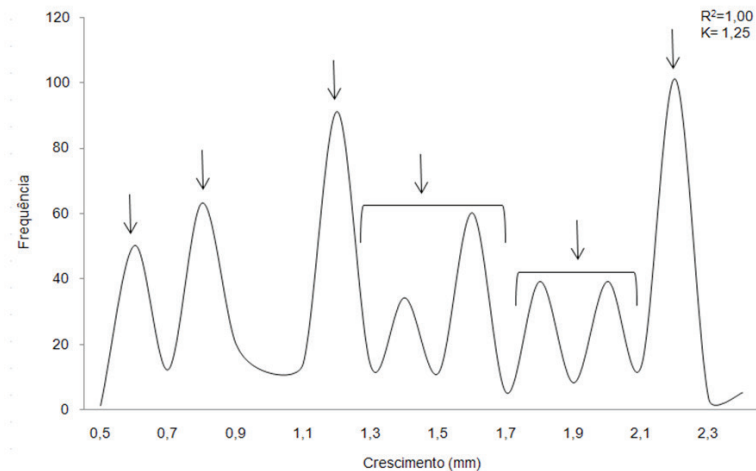


Figura 2. Distribuição de frequência do tamanho da cápsula cefálica de *Spodoptera frugiperda* (mm) alimentada com folhas da cultivar transgênica de milho (AG 9045 PRO2: isolinha Bt); setas indicam limites dos instares; razão de crescimento (K) e coeficiente de determinação (R²).

A duração da fase adulta de *S. frugiperda* (nove dias) foi significativamente maior em indivíduos oriundos de lagartas alimentadas com folhas da cultivar convencional (Tabela 1). Como o período de alimentação das lagartas na cultivar convencional foi similar ao da transgênica, possivelmente, algum

efeito nocivo da proteína *Bt* exercido por essa última cultivar tenha afetado a fisiologia do inseto, reduzindo sua longevidade.

O período de oviposição de *S. frugiperda* também foi maior em fêmeas oriundas de lagartas alimentadas com folhas da cultivar convencional (Tabela 1) e, possivelmente, resultou de um maior vigor adquirido pelo inseto. O consumo de folhas livres de proteínas *Bt*, da cultivar convencional, teria ocasionado a maior longevidade ao inseto. Nesse contexto, o período de oviposição de *S. frugiperda*, associado à alimentação em diferentes cultivares de soja, variou cerca de 1,5 dias (Veloso, 2010).

A alimentação de lagartas de *S. frugiperda* nas cultivares convencional (AG 9045) e transgênica (AG 9045 PRO2) induziu um ciclo biológico total do inseto de cerca de 53,1 e 47,3 dias, respectivamente (Tabela 1), dependendo, principalmente, de variações na duração das fases pupal e adulta. Esses resultados são semelhantes aos obtidos com a alimentação de *S. frugiperda* e *Spodoptera cosmioides* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes dietas, tendo a duração do ciclo total variado de 49,1 a 53,4 dias (Bavaresco et al., 2004; Busato et al., 2004).

Expressiva diferença foi detectada quanto à viabilidade de ovos de *S. frugiperda*, sendo de $\pm 70\%$ e $\pm 45\%$, em decorrência da alimentação de lagartas nas cultivares convencional e transgênica, respectivamente (Tabela 2). Em estudo, em laboratório, sobre a alimentação de *S. frugiperda* nas cultivares de milho Elisa, BR 400 e BR Pampa, foram obtidas viabilidades de ovos (não muito discrepantes) de $\pm 60\%$, $\pm 70\%$ e $\pm 60\%$, respectivamente (Santos et al., 2004). Ainda, viabilidades de ovos similares e elevadas, de $\pm 95\%$, $\pm 90\%$ e $\pm 80\%$, respectivamente, foram obtidas via alimentação de lagartas nas cultivares AG 28, P 6872 e AG 64 (Melo; Silva, 1987). Porém, os resultados do presente estudo evidenciam a influência negativa da cultivar AG 9045 PRO2 sobre o inseto, segundo a qual, ao afetar a longevidade de adultos e a viabilidade de ovos, pode reduzir o tamanho de populações infestantes e, como consequência, o potencial de dano.

A viabilidade larval de *S. frugiperda*, de $\pm 70\%$ e $\pm 45\%$, inerentes às cultivares convencional e transgênica, respectivamente (Tabela 2), refletindo possíveis alterações na fisiologia do inseto associadas à qualidade do substrato alimentar, evidenciou efeitos negativos da isolinha *Bt*. Embora lagartas alimentadas nesse substrato tenham atingido a fase seguinte do ciclo biológi-

co, a quantidade foi expressivamente menor, permitindo prospectar redução populacional e dos danos em futuros cultivos de milho.

A viabilidade pré-pupal de *S. frugiperda*, associada à alimentação nas folhas das cultivares convencional ($\pm 75\%$) e transgênica ($\pm 70\%$), foi similar ao ponto de não serem distinguidos efeitos antagônicos sobre o inseto (Tabela 2). Porém, ocorreu expressiva diferença na viabilidade pupal associada às cultivares convencional e transgênica, de $\pm 95\%$ e 80% , respectivamente (Tabela 2), indicando menor emergência de adultos, decorrente da alimentação na isolinha *Bt*.

A viabilidade total de *S. frugiperda* foi de $\pm 75\%$ para a cultivar AG 9045 (convencional) e $\pm 45\%$ para a AG 9045 PRO2 (transgênica), equivalendo a uma redução da ordem de 40% (Tabela 2). Isso está em conformidade com resultados sobre efeitos subletais de isolados de *Bt* sobre a fase adulta de *S. frugiperda*, implicando redução de emergência, longevidade e fecundidade do inseto (Polanczyk; Alves, 2005).

Tabela 2. Viabilidade (%) das fases desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* alimentada com as cultivares convencional (AG 9045) e transgênica de milho (AG 9045 PRO2: isolinha *Bt*) em laboratório.

Fases de desenvolvimento	Viabilidade (%)	
	AG 9045	AG 9045 PRO2
Ovo	72,6	45,1
Larval	67,7	46,7
Pré-pupal	75,0	69,8
Pupal	97,0	81,8
Total	72,6	45,1

A biomassa de lagartas de *S. frugiperda* aos 14 dias, após o início da alimentação em folhas de milho, foi de 93,7 mg e 104,6 mg para as cultivares convencional (AG 9045) e transgênica (AG 9045 PRO2), respectivamente, sem diferir significativamente (Tabela 3). Estudo sobre resistência de milho transgênico a *S. frugiperda* (Waquil et al., 2002) indicou que, 15 dias após a infestação, o peso de lagartas alimentadas em híbrido não *Bt* ou suscetível (Pioneer 3162) variou de 150 mg a 250 mg, enquanto em híbridos *Bt* a variação foi de zero [2722 IMI (Cry1F)] a 586,4 mg [Garst 8481 (Cry9C)]. As diferenças entre os valores de biomassa de lagartas, detectados nos estudos anterior (Waquil et al., 2002) e presente, ocorrem, provavelmente, porque a cultivar hospedeira possui substâncias que afetam a digestão e assimilação de nutrientes, refletindo no peso adquirido, mesmo em cultivares convencionais como a AG 9045. Essa inferência baseia-se no comportamento das lagartas de *S. frugiperda*, que pode se modificar conforme as características das plantas hospedeiras, ainda que preferenciais, pois cada planta tem capacidade própria de defesa, via mecanismos de antibiose ou antixenose (Dias et al., 2016).

O peso das pupas de *S. frugiperda* originadas de lagartas alimentadas com folhas da cultivar convencional (126,4 mg) foi significativamente maior, apesar de superar em apenas cerca de 7% o peso de pupas relativo à cultivar transgênica (Tabela 3). Isso está de acordo com a tendência de a biomassa pupal apresentar baixa variabilidade, pois é uma fase de acúmulo de água no corpo do inseto. Existe, porém, uma correlação entre biomassa pupal e fertilidade do inseto, sendo que pupas mais pesadas originam adultos mais férteis (Pencoe; Martin; 1981; Dias et al., 2016). Por outro lado, foi observado que, apesar do maior consumo de alimento por lagartas mantidas em genótipo de milho convencional, houve prolongamento do ciclo biológico, redução de massa e de comprimento e largura da cápsula cefálica, evidenciando um mecanismo de antibiose (Viana; Potenza, 2000). Resultado similar foi verificado neste trabalho com a cultivar AG 9045 (convencional) que, mesmo viabilizando o crescimento larval de *S. frugiperda*, acarretou menor peso de lagartas.

Tabela 3. Peso (mg) (+ EP) de lagartas e pupas de *Spodoptera frugiperda* alimentadas com as cultivares convencional (AG 9045) e transgênica de milho (AG 9045 PRO2: isolinha *Bt*) em laboratório¹.

Fases de desenvolvimento	Cultivares		
	AG 9045	AG 9045 PRO2	CV ²
Larval	93,7 ± 0,005 A [107] ³	104,6 ± 0,011 A [91]	5,9
Pupal	126,4 ± 0,003 A [51]	117,0 ± 0,003 B [44]	14,9

¹Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem significativamente pelo teste t em nível de 5% de probabilidade;

²Coefficiente de variação (%);

³Número de observações [n];

EP = erro padrão.

A razão sexual de indivíduos de *S. frugiperda* oriundos de lagartas alimentadas no milho AG 9045 (convencional) e AG 9045 PRO2 (transgênico) foi de 33% e 39%, respectivamente. Estudo anterior indicou que o consumo de plantas de milho que expressam proteínas *Bt* não interfere na sobrevivência de *S. frugiperda*, em função do sexo, sendo a razão sexual de insetos oriundos de plantas não *Bt* e *Bt*, de 49% e 50%, respectivamente (Waquil et al., 2013), o que difere do resultado no presente estudo.

Com base na tabela de vida e fertilidade de *S. frugiperda*, foi constatado que a taxa líquida de reprodução (R_0), ou seja, a capacidade da população aumentar em número a cada geração, foi cerca de 2,5 maior para insetos originados da alimentação na cultivar convencional (Tabela 4), o que evidencia a cultivar transgênica como menos propícia ao desenvolvimento da lagarta-do-cartucho. Quando o alimento é adequado e/ou o inseto é adaptado às condições ambientais das áreas de cultivo, como no caso de biótipos de *S. frugiperda*, a R_0 é ainda maior. Valor de R_0 próximo a 2 mil foi obtido para *S. cosmioides* via alimentação em dietas artificiais, em laboratório (Bavaresco et al., 2004), enquanto valor próximo a 635 foi obtido com *S. frugiperda* alimentada com milho cultivado em solo com níveis adequados de alumínio (Oliveira et al., 1990).

Quanto à duração média de uma geração (T), os insetos apresentaram 39,0 dias no híbrido AG 9045 convencional e 39,2 dias no híbrido AG 90 45 PRO2 (Tabela 4). Esses resultados divergem daqueles encontrados por Rosa et al. (2012), em que lagartas de *S. frugiperda* alimentadas com linhagens de milho M89420 e M89374 apresentaram, respectivamente, 37,3 e 60,1 dias.

A taxa intrínseca de crescimento (r_m) foi de 0,02 e 0,01, para insetos alimentados com os híbridos AG 9045 convencional e AG 9045 PRO2, respectivamente, e a taxa finita de aumento (λ) e/ou taxa de crescimento diário da população foi de 1,02 e 1,01, respectivamente (Tabela 4).

Esses resultados corroboram com os encontrados por Rosa et al. (2012), que verificaram que a taxa intrínseca de crescimento para *S. frugiperda* alimentadas com as linhagens de milho M89287 foi de 0,02755, e a taxa finita de aumento (λ) e/ou taxa de crescimento diário da população para os mesmos materiais foi de 1,02. Contudo, os parâmetros duração média de uma geração (T) e a taxa intrínseca de crescimento (r_m) atingiram resultados inferiores neste estudo, o que reflete em baixo desenvolvimento das lagartas de *S. frugiperda*.

Tabela 4. Taxa líquida de reprodução (R_o), duração média de uma geração (T), capacidade inata de aumentar em número (r_m) e razão finita de aumento (λ) de *Spodoptera frugiperda*, com as cultivares de milho AG 9045 convencional e AG 9045 PRO2 isolinha Bt em laboratório

Parâmetros biológicos	Cultivares	
	AG 9045	AG 9045 PRO2
R_o	29,43	11,47
T	39,0	39,2
r_m	0,02	0,01
λ	1,02	1,01

Em uma análise global dos resultados, verificou-se que existe um efeito acumulativo das toxinas *Bt* nas fases de desenvolvimento, em que a viabilidade das fases é superior no milho AG 9045 convencional em relação ao AG 9045 PRO2. No entanto, deve-se ter cuidado na utilização de cultivares que apresentam proteínas Cry1A.105/Cry2Ab2, principalmente no que se refere ao desenvolvimento de resistência.

Conclusões

É possível *Spodoptera frugiperda* completar seu ciclo biológico em híbrido de milho expressando as proteínas Cry1A.105/Cry2Ab2. No entanto, há efeito subletal do milho transgênico, principalmente na viabilidade das fases do ciclo do inseto, em relação ao híbrido convencional. O milho expressando as proteínas Cry1A.105/Cry2Ab2 proporciona redução na capacidade de reprodução de *Spodoptera frugiperda*, possibilitando um menor número de indivíduos para a geração seguinte.

Referências

- AFONSO-ROSA, A. P. S.; BARCELOS, H. T. **Bioecologia e controle de *Spodoptera frugiperda* em milho**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2012. 30 p. (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 344).
- BAVARESCO, A.; GARCIA, M. S.; GRÜTZMACHER, A. D.; RINGENBERG, R.; FORESTI, J. Adequação de uma dieta artificial para a criação de *Spodoptera cosmioides* (Walk.) (Lepidoptera: Noctuidae) em laboratório. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 33, n. 2, p. 155-161, 2004.
- BERNARDI, O.; ALBERNAZ, K. C.; VALICENTE, F. H.; OMOTO, C. Resistência de insetos-praga a plantas geneticamente modificadas. In: BORÉM, A.; ALMEIDA, G. (Org.). **Plantas geneticamente modificadas: Desafios e oportunidades para regiões tropicais**. Visconde do Rio Branco, MG: Suprema, 2011. v. 1, p. 179-204.
- BERNARDI, D.; BERNARDI, O.; HORIKOSHI, R.; SALMERON, E.; OKUMA, D. M.; OMOTO, C. Biological activity of Bt proteins expressed in different structures of transgenic corn against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Ciência Rural**, v. 46, p. 1019-1024, 2016.
- BUSATO, G. R.; GRÜTZMACHER, A. D.; GARCIA, M. S.; GIOLO, F. P.; ZOTTI, M. J.; MAGALHÃES, T. R. Tabela de vida de fertilidade de populações de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em folhas de milho e arroz irrigado. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 10, n. 4, p. 449-455, 2004.
- BUTT, B. A.; CANTU, E. **Sex determination of lepidopterous pupae**. Washington: USDA, 1962. 7p.

CRUZ, I. **A lagarta-do-cartucho na cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 1995. 45 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 21).

CRUZ, I. **Manejo de Lepidópteros**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2016. cap. 29, p. 320-328. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/106298/1/Manejo-lepidopteros.pdf>>. Acesso em: 06 dez. 2016.

CTNBio. **Liberações comerciais**. 2017. Disponível em: <http://ctnbio.mcti.gov.br/liberacao-comercial#/liberacao-comercial/consultar-processo>. Acesso em: 25 jan. 2017.

DIAS, A. S.; MARUCCI, R. C.; MENDES, S. M.; MOREIRA, S. G.; ARAÚJO, O. G.; SANTOS, C. A.; BARBOSA, T. A. Bioecology of *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1757) in different cover crops. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 32, n. 2, p. 337-345, 2016.

DUTTON, A.; ROMEIS, J.; BIGLER, F. Effects of Bt maize expressing Cry1Ab and Bt spray on *Spodoptera littoralis*. **Entomologia Experimentalis Applicata**, Hoboken, v. 114, p. 161-169, 2005.

DYAR, H. G. The number of molts of lepidopterous larvae. **Psyche**, Cambridge, v. 5, p. 420-422, 1890.

EMYGDIO, B. M. Cultivares de milho. In: EMYGDIO, B. M.; AFONSO-ROSA, A. P. S.; OLIVEIRA, A. C. B. (Ed.). **Cultivo e soja e milho em terras baixas do Rio Grande do Sul**. Brasília, DF, p. 141-162, 2017.

FARIAS, J. R.; ANDOW, D. A.; HORIKOSHI, R. J.; BERNARDI, D.; RIBEIRO, R. S.; NASCIMENTO, A. R. B.; SANTOS, A. C.; OMOTO C. Frequency of Cry1F resistance alleles in *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. **Pest Management Science**, New Jersey, v. 72, p. 2295-2302, 2016.

GIOLLO, F. P.; GRUTZMACHER, A. D.; GARCIA, M. S.; BUSATO, G. R. Parâmetros biológicos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) oriundas de diferentes localidades e hospedeiros. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 8, p. 221-224, 2002.

GOULD, F. Sustainability of transgenic insecticidal cultivars: integrating pest genetics and ecology. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 43, p. 701-726, 1998.

GOULD, F.; COHEN, M. B.; BENTUR, J. S.; KENNEDY, G. G.; VAN DUYN, J. Impact of small fitness costs on pest adaptation to crop varieties with multiple toxins: a heuristic model. **Journal of Economic Entomology**, v. 99, p. 2091-2099, 2006.

HADDAD, M. L.; MORAES, R. C. B.; PARRA, J. R. P. **Programa MOBAE: Modelos bioestatísticos aplicados à entomologia (software)**. Piracicaba: ESALQ/USP, 1995. 44 p. + 1 disquete.

HARDKE, J. T.; LEONARD, B. R.; HUANG, F.; JACKSON, R. E. Damage and survivorship of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) on transgenic field corn expressing *Bacillus thuringiensis* Cry proteins. **Crop Protection**, London, v. 30, p. 168-172, 2011.

LEITE, N. A.; MENDES, S. M.; WAQUIL, J. M.; PEREIRA, E. J. G. **Milho Bt no Brasil: a situação e a evolução da resistência de insetos**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2011. 47 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Documento, 133).

MAAGD, R. A.; BOSCH, D.; STIEKEMA, W. *Bacillus thuringiensis* toxin-mediated insect resistance in plants. **Trend in Plant Science**, London, v. 4, p. 9-13, 1999.

MARUCCI, R. C. Levantamento de adultos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) utilizando armadilha de feromônio em área comercial de milho Bt. In:

XXVII CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 4., 2010, **Anais...** Goiânia: Embrapa Arroz e Feijão, 2010. 1 CD-Rom, p. 490-494.

MELO, M.; SILVA, R. F. P. Influência de três cultivares de milho no desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Porto Alegre, v. 16, n. 1, p. 37-49, 1987.

MENDES, S. M.; WAQUIL, J. M. **Uso do milho Bt no manejo integrado de lepidópteros-pragas: recomendações de uso**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2009. 8p. (Embrapa Milho e Sorgo. Comunicado Técnico, 170).

MENDES, S. M.; BOREGAS, K. G. B.; LOPES, M. E.; WAQUIL, J. M.; WAQUIL, M. Respostas da lagarta-do-cartucho ao milho geneticamente modificado expressando a toxina Cry 1A(b). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, p. 239-244, 2011.

OLIVEIRA, L. J.; PARRA, J. R.; CRUZ, I. Biologia da lagarta-do-cartucho em milho cultivado em solo corrigido para três níveis de alumínio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 2, p. 157-166, 1990.

OMOTO, C.; BERNARDI, O.; SALMERON, E.; SORGATTO, R. J.; DOURADO, P. M.; CRIVELLARI, A.; CARVALHO, R. A.; WILLSE, A.; MARTINELLI, S.; HEAD, G. P. Field-evolved resistance to Cry1Ab maize by *Spodoptera frugiperda* in Brazil. **Pest Management Science**, New Jersey, v. 72, p. 1727-1736, 2016.

PARRA, J. R. P. **Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico**. Piracicaba: Esalq/Fealq, 2001. 134p.

PARRA, J. R. P. Índices nutricionais para medir consumo e utilização de alimentos por insetos. In: PANIZZ, A. R.; PARRA, J. R. P. **Bioecologia e nutrição de insetos: base para o manejo integrado**. Brasília, DF: Embrapa Informações Tecnológicas, 2009. p. 37-90.

PENCOE, N. L.; MARTIN, P. B. Development and reproduction of fall armyworms on several wild grasses. **Environmental Entomology**, College Park, v. 10, n. 6, p. 999-1002, 1981.

PEREIRA FILHO, I. A.; BORGHI, E. **Mercado de sementes de milho no Brasil safra 2016/2017**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2016. 28p. (Embrapa Milho e Sorgo. Documentos, 202).

POLANCZYK, R. A.; ALVES, S. B. Biological parameters of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) assayed with *Bacillus thuringiensis* Berliner. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 62, n. 5, p. 464-468, 2005.

REUNIÃO TÉCNICA ANUAL DO MILHO, 58ª; REUNIÃO TÉCNICA DO SORGO, 41ª, 2013, Pelotas, RS. Indicações técnicas para o cultivo de Milho e de Sorgo no Rio Grande do Sul, Safras: 2013/2014, 2014/2015. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2013. 125 p.

ROSA, A. P. A.; TRECHA, C. O.; ALVES, A. C.; GARCIA, L.; GONÇALVES, V. P. Biologia e tabela de vida de fertilidade de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) em linhagens de milho. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 79, n. 1, p. 39-45, 2012.

ROUSH, R. T. Managing pests and their resistance to *Bacillus thuringiensis*: can transgenic crops be better than sprays? **Biocontrol Science Technology**, United Kingdom, v. 4, p. 501-516, 1994.

SANTOS, L. M.; REDAELLI, L. R.; DIEFENBACH, L. M. G.; EFROM, C. F. S. Fertility and longevity of *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) in corn genotypes. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 2, 2004.

SCHNEPF, E.; WHITELEY, H. R. Cloning and expression of the *Bacillus thuringiensis* crystal protein gene in *Escherichia coli*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, Washington, v. 78, p. 2893-2897, 1981.

SIEGFRIED, B. D. Ten years of *Bt* resistance monitoring in the European corn borer: What we know, what we don't know, and what we can do better. **American Entomologist**, Baltimore, v. 53, p. 208-214, 2007.

SILVA, F. A. S.; AZEVEDO, C. A. V. The assistat software version 7.7 and its use in the analysis of experimental data. **África Journal Agriculture Research**, v. 11, n. 39, p. 3733-3740, 2016.

SILVEIRA NETO, S.; NAKANO, A.; BARBIN, D. N. A. V. **Manual de ecologia dos insetos**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1976. 419 p.

SILVEIRA, L. C. P.; VENDRAMIM, L. D.; ROSSETTO, C. J. Efeito de genótipos de milho no desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 26, n. 2, p. 291-298, 1997.

SOBERÓN, M.; GILL, S. S.; BRAVO, A. SIGNALING VERSUS PUNCHING HOLE: How do *Bacillus thuringiensis* toxins kill insect midgut cells? **Cellular and Molecular Life Sciences**, Basel, v. 66, n. 8, p. 1337-1349, 2009.

STORER, N. P.; BABCOCK, J. M.; SCHLENZ, M.; MEADE, T.; THOMPSON, G. D.; BING, J. W.; HUCKABA, R. M. Discovery and characterization of field resistance to *Bt* maize: *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Puerto Rico. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, p. 1031-1038, 2010.

SYNGENTA. **Biotecnologia**: a Syngenta sempre fez primeiro. 2010. Disponível em : <<http://www.syngenta.com/country/br/pt/sobreasyngenta/biotecnologia/pages/biotecnologianobrasil.aspx>>. Acesso em: 18 jan. 2017.

TABASHNIK, B. E.; BREVAULT, T.; CARRIERE, Y. Insect resistance to *Bt* crops: lessons from the first billion acres. **Nature Biotechnology**, v. 31, p. 510-21, 2013.

VELOSO, S. E. **Resistência de cultivares de soja a *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae)**. 2010. 56 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2010.

VENDRAMIM, J. D.; NISHIKAWA, M. A. M. Melhoramento para a resistência a insetos. In: NASS, I. I. (Ed). **Recursos genéticos e melhoramento de plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. p. 737-781.

VIANA, P. A.; POTENZA, M. R. Avaliação de antibiose e não preferência em cultivares de milho selecionados com resistência à lagarta-do-cartucho. **Bragantia**, Campinas, v. 59, n. 1, p. 27-33, 2000.

WAQUIL, J. M. Manejo de resistência em insetos-praga. In: PIRES, C. S. S.; FONTES, E. M. G.; SUJII, E. R. (Ed.). **Impacto ecológico de plantas geneticamente modificadas: o algodão resistente a insetos como estudo de caso**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2003. p. 135-16.

WAQUIL, J. M.; VILELA, F. M. F.; FOSTER, J. E. Resistência do milho (*Zea mays* L.) transgênico (Bt) à lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 1, p.1-11, 2002.

WAQUIL, J. M.; DOURADO, P. M.; CARVALHO, R. A.; OLIVEIRA, W. S.; BERGER, G. U.; HEAD, G. P.; MARTINELLI, S. Manejo de lepidópteros-praga na cultura do milho com o evento *Bt* piramidado Cry1A.105 e Cry2Ab2. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 48, n. 12, p. 1529–1537, 2013.

Literatura recomendada

GOUSSAIN, M. M.; MORAES, J. C.; CARVALHO, J. G.; NOGUEIRA, N. L.; ROSSI, M. L. Efeito de aplicação de silício em plantas de milho no desenvolvimento biológico da lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 31, n. 2, p. 305-310, 2002.

OMOTO, C. Functional dominance of different aged larvae of *Bt*-resistant *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) on transgenic maize expressing Vip3Aa20 protein. **Crop Protection**, London, v. 88, p. 65-71, 2016.

TABASHNIK, B. E. Evolution of resistance to *Bacillus thuringiensis*. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 39, p. 47-79, 1994.



Clima Temperado